

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

Dottorato di ricerca in
METODOLOGIE DI RICERCA NELLE MALATTIE VASCOLARI E TORACICHE
XIX Ciclo

**TRAPIANTO ETEROTOPICO DELLA TRACHEA:
STUDIO SPERIMENTALE**

TESI DI DOTTORATO

Settore Scientifico Disciplinare: MED 21

Relatore
Dott. Franco Stella

Coordinatore
Prof. Andrea Stella

Dottorando
Dott. Francesco Sellitri

Anno accademico 2005 - 2006

INDICE

1. Introduzione.....	pag. 3
2. Studio anatomico-funzionale del blocco tireo-tracheo-esofageo	pag. 8
3. Materiali e metodi	pag. 23
4. Risultati.....	pag. 39
5. Conclusioni.....	pag. 42
6. Bibliografia.....	pag. 44

1. INTRODUZIONE

La resezione circonfenziale di trachea seguita da anastomosi termino-terminale è attualmente la terapia di scelta alcune patologie della trachea.

La ricostruzione anastomotica può avvenire solamente se la resezione non oltrepassa il 50-60% della lunghezza complessiva dell'organo: questo, unito alla fissità propria della trachea, alla mancanza di elasticità longitudinale e, non ultimo, alla vascolarizzazione precaria, rende l'applicazione della chirurgia riparativa fortemente limitata. D'altro canto sono falliti i tentativi di riparazione tracheale con sostituzione mediante trachee avascolarizzate, a causa dell'insorgenza di estesi fenomeni necrotici ed infettivi.

Attualmente il trapianto di trachea umano non è stato ancora realizzato, principalmente a causa della mancanza di un peduncolo vascolare tracheale; esistono, tuttavia, risultati parzialmente confortanti che provengono dalla sperimentazione animale.

Indicazioni

In linea teorica sono numerose le patologie tracheali che potrebbero giovare di una sostituzione tracheale per trapianto.

In primis le **patologie acquisite**, tra cui le stenosi benigne che annoverano come genesi eziologica i traumi e le intubazioni prolungate.

La fisiopatologia delle stenosi tracheali post-intubazione ha come momento eziologico principe l'ischemia con ulcerazione della mucosa seguita dalla conseguente disepitelizzazione della pars cartilaginea. Ciò sembrerebbe dovuto all'eccessiva

pressione della cuffia di tubi endotracheali quando questa supera la pressione capillare (20-40 mmHg); la sovrapposizione di fenomeni flogistici conseguenti ad infezioni locali più o meno opportunistiche genera la malacia progressiva degli anelli tracheali.

La maggior parte dei pazienti che sviluppano una stenosi tracheale diventano sintomatici entro le prime 5 settimane dall'estubazione, anche se l'evenienza può manifestarsi in acuto entro le prime 24 ore dal respiro spontaneo.

In genere risultano sintomatici i pazienti che presentino stenosi superiori al 60% del lume tracheale.

Altra causa di stenosi tracheale acquisita è rappresentata dalle fistole esofago-tracheali benigne; anche in questo caso l'intubazione prolungata gioca in ruolo determinante.

La terza causa di stenosi tracheale deriva dalla malattie infiammatorie croniche, quali la Granulomatosi di Wegener, la policondrite recidivante, le tracheobroncopatie osteocondroplatiche e l'amiloidosi; queste patologie hanno in genere come causa comune un processo autoimmune che determina compromissione diretta dell'impalcatura tracheale o mediata dall'alterazione del piccolo circolo, con conseguente stenosi da degenerazione cicatriziale.

La sostituzione tracheale mediante trapianto non esclude in alcuni casi selezionati patologie tracheali di origine eteroplastica quali i tumori a "bassa malignità" come i cilindromi, i carcinoidi ed i tumori mucoepidermoidi.

Il secondo grande capitolo delle malattie tracheali suscettibili di trapianto, è costituito dalle **patologie congenite**: stenosi congenite e tracheobroncomalacie hanno un'incidenza superiore, mentre agenesia tracheale e tracheobroncomegalia sono di riscontro eccezionale.

Le stenosi tracheali congenite hanno un'incidenza pari a 1/40000 nati; corrispondono ad anomalie intrinseche degli anelli tracheali che collassato con gli atti respiratori. Ne esistono essenzialmente tre tipologie: stenosi segmentarie, fusiformi e ipoplasie tracheali generalizzate.

La più frequente è sicuramente la stenosi tracheale segmentaria dovuta a compressione vascolare (arteria anonima aberrante, ramo sinistro dell'arteria polmonare in sede retrotracheale, duplicazione dell'arco aortico).

Ricordiamo infine la tracheobroncomalacia che deriva da un processo di disorganizzazione dell'armatura muscolo-elastica ed ad una degenerazione mucoide della sostanza fondamentale degli anelli cartilaginei; ha come risultato una dispnea a predominanza inspiratoria.

Razionale del trapianto tracheale e della ricerca sperimentale

La resezione-tracheale rappresenta il trattamento di scelta per tutte le forme di stenosi tracheale sia nell'adulto che nel bambino: i risultati sono ottimali, purchè siano rispettati alcuni principi chirurgici ineluttabili:

- tensione dell'anastomosi;
- conservazione della vascolarizzazione;
- assenza di fenomeni flogistici;
- assenza di fenomeni infettivi;
- bonifica pre-operatoria delle secrezioni a valle mediante dilatazione meccanica o laser (consigliato).

Quanto enunciato rimane valido per l'adulto, come già ricordato in precedenza, se la stenosi non supera il 50-60% del condotto tracheale in relazione alla rigidità anatomica che deriva dagli

stretti rapporti con laringe e carena, all'assenza di una reale elasticità longitudinale ed alla peculiare vascolarizzazione segmentarla.

Nel bambino in genere è preclusa ogni possibilità di ricostruzione anastomotica se il coinvolgimento supera quattro anelli tracheali.

Il razionale del trapianto concerne il trattamento di tutti quei casi in cui le peculiarità anatomiche e/o l'estensione della stenosi non permettano un trattamento resettivo-ricostruttivo scevro da gravi complicanze.

La ricerca sperimentale riguarda la possibilità di effettuare un trapianto tracheale al fine di un'applicazione clinica della metodologia. In particolare si cercherà di dimostrare la possibilità di mantenere una vascolarizzazione tracheale mediante il prelievo del blocco tireo-esofago-tracheale, che verrà perfuso con soluzione di conservazione e successivo re-impianto dopo tempi predeterminati di ischemia.

Le somiglianze anatomico-fisiologiche con l'apparato respiratorio umano hanno fatto sì che il maiale fosse scelto come animale da esperimento.

La sperimentazione ha riguardato la fattibilità di un trapianto tracheale su maiali di peso compreso tra i 20 ed i 25 Kg, arruolando un numero di animali donatori (5) pari ad uno di riceventi (5). Gli animali donatori sono stati sacrificati per il prelievo del blocco esofago-trachea-tiroide-cuore-polmoni.

I tempi successivi all'espianto sono stati quelli di preparazione a banco del blocco esofago-trachea-tiroide con successiva tracheoplegia previa infusione di soluzione di conservazione.

Dopo la conservazione del blocco preparato con tempi di ischemia prestabiliti (3 ore), si è proceduto all'impianto del blocco sull'animale ricevente con stabulazione dello stesso per 14 giorni.

Dopo la soppressione dell'animale ricevente, la trachea trapiantata è stata asportata ed inviata per una valutazione anatomo-patologica.

2. STUDIO ANATOMO-FUNZIONALE DEL BLOCCO TRACHEO-ESOFAGO-TIROIDEO

Poiché è stato utilizzato come modello il maiale si è reso necessario uno studio anatomico-funzionale dell'apparato respiratorio e cardio-vascolare dello stesso.

Lo studio si è basato soprattutto sull'osservazione e descrizione del blocco esofago-trachea-tiroide-cuore-polmone del maiale dopo sacrificio dello stesso. Si è provveduto all'isolamento delle varie strutture anatomiche con attenzione a quelle vascolari, arteriose e venose, ed all'albero tracheo-bronchiale.

In sede autoptica si è provveduto all'isolamento ed analisi delle suddette strutture anatomiche con particolare attenzione all'albero tracheo-bronchiale ed alla sua propria vascolarizzazione arteriosa e venosa, riscontrando le già note analogie tra i due apparati animale ed umano.

In un secondo tempo, grazie all'iconografia prodotta e riportata di seguito e all'ausilio di materiale bibliografico, si sono analizzate le particolarità del blocco in esame in previsione di attività trapiantologica.

In particolare si è posta attenzione alla vascolarizzazione arteriosa e venosa della trachea, che, nella parte prossimale e mediale è irrorata dai rami dell'arteria tiroidea inferiore che origina dall'arteria succlavia, mentre la porzione inferiore, compresa la biforcazione tracheale, è vascolarizzata da un'arteria bronchiale che origina direttamente dall'aorta discendente; inoltre, la parte posteriore della trachea è vascolarizzata da piccoli rami arteriosi di pertinenza esofagea. Il ritorno venoso è assicurato dalla vena cervicale discendente che drena nella vena giugulare interna che sfocia, infine nella vena cava superiore.



Fig. 1 - Cervicotomia nel maiale

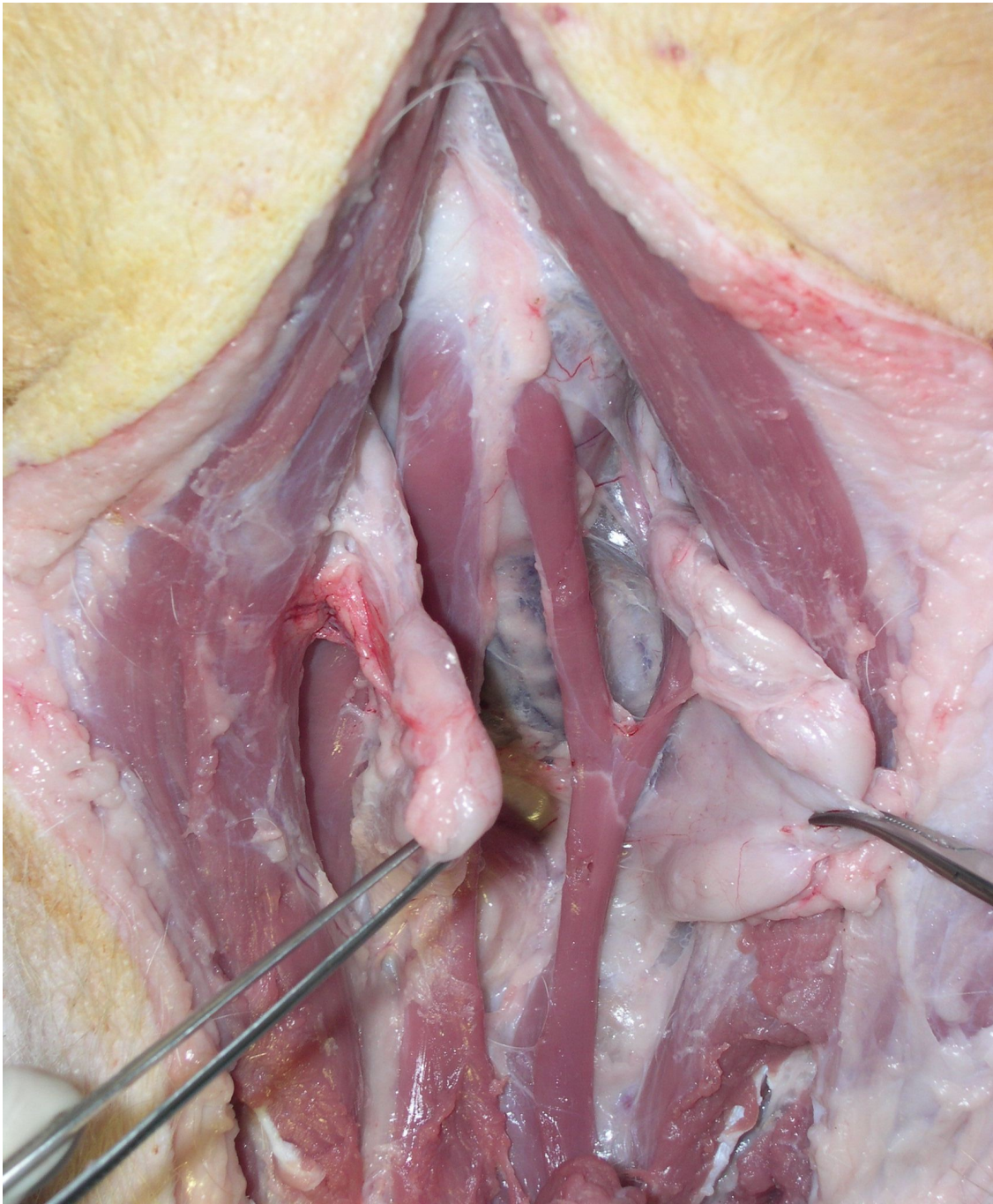
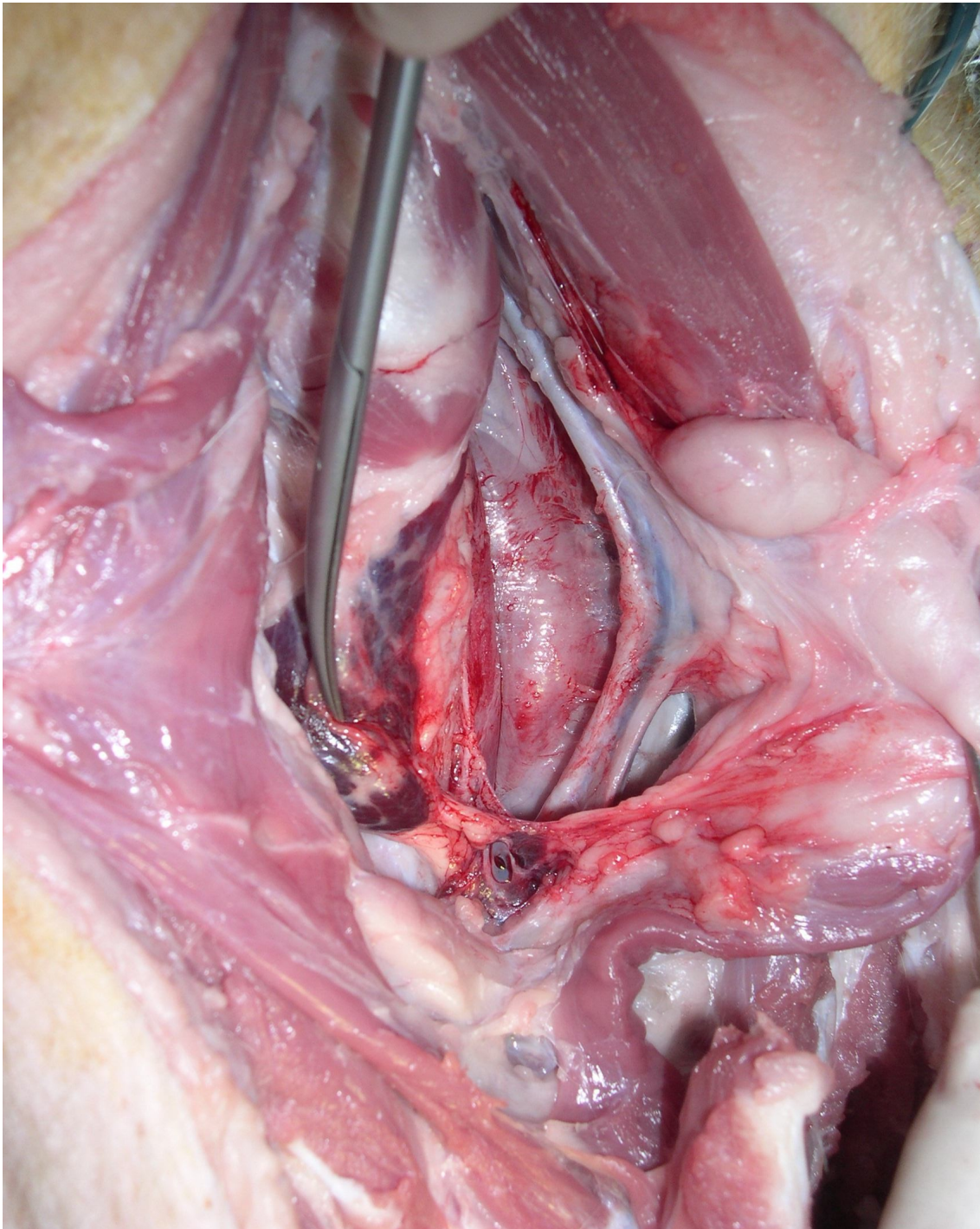


Fig. 2 - Isolamento del timo



Fig. 3 - Accesso alla loggia tiroidea



***Fig. 4 - Isolamento del fascio vascolare: carotide sn e
giugulare interna sn***

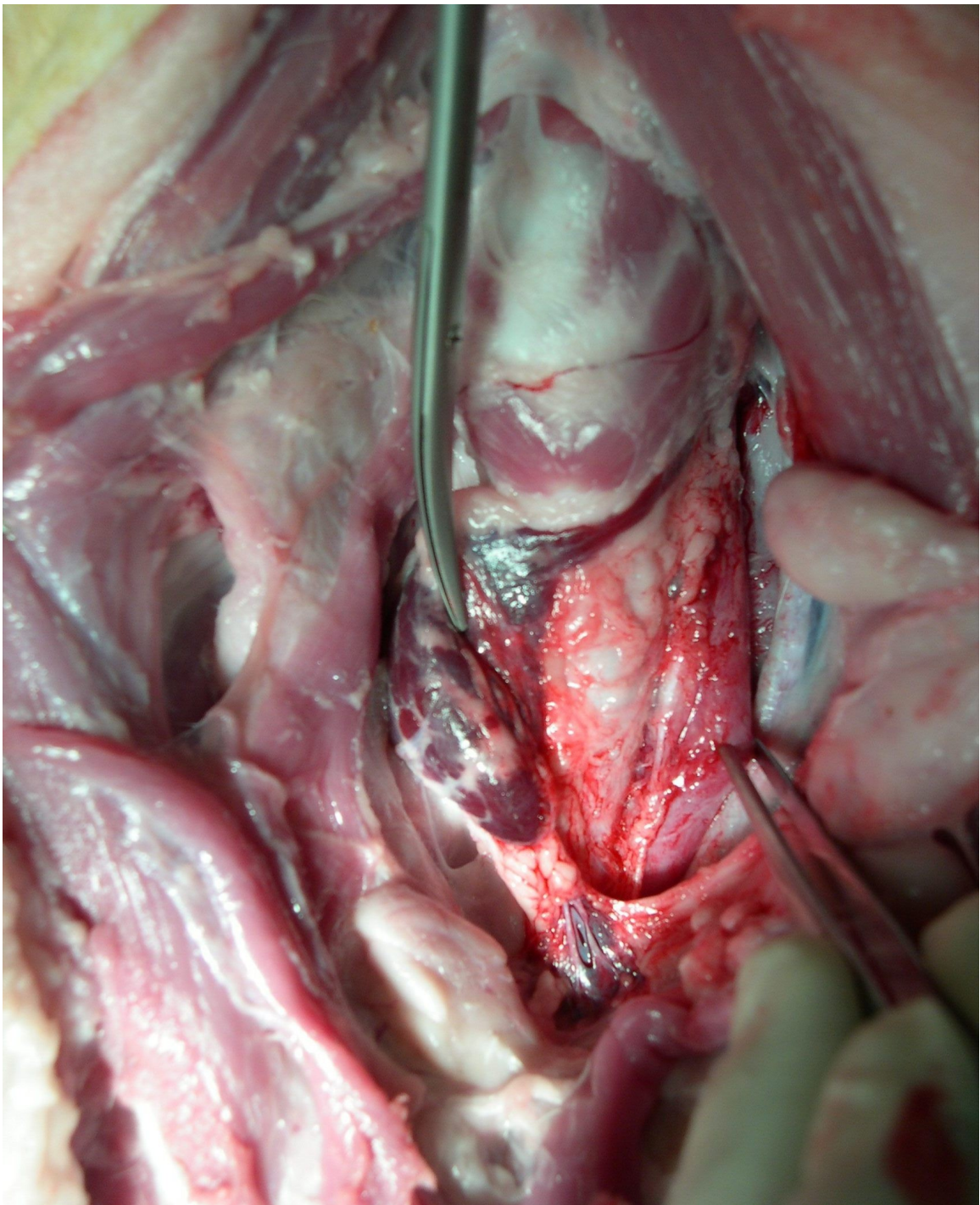


Fig. 5 - Esposizione di tiroide, trachea ed esofago

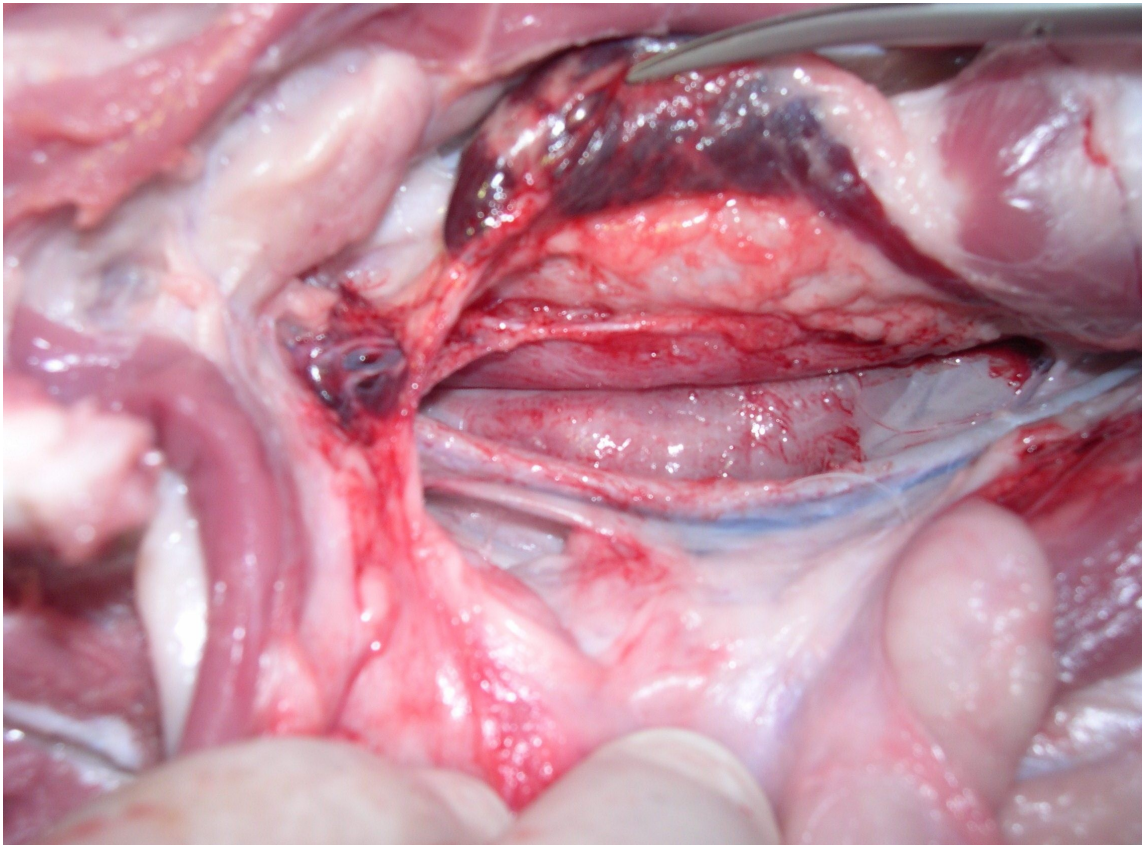


Fig. 6 - Particolare: dal basso verso l'alto si evidenziano il fascio vascolare, l'esofago, la trachea e la tiroide

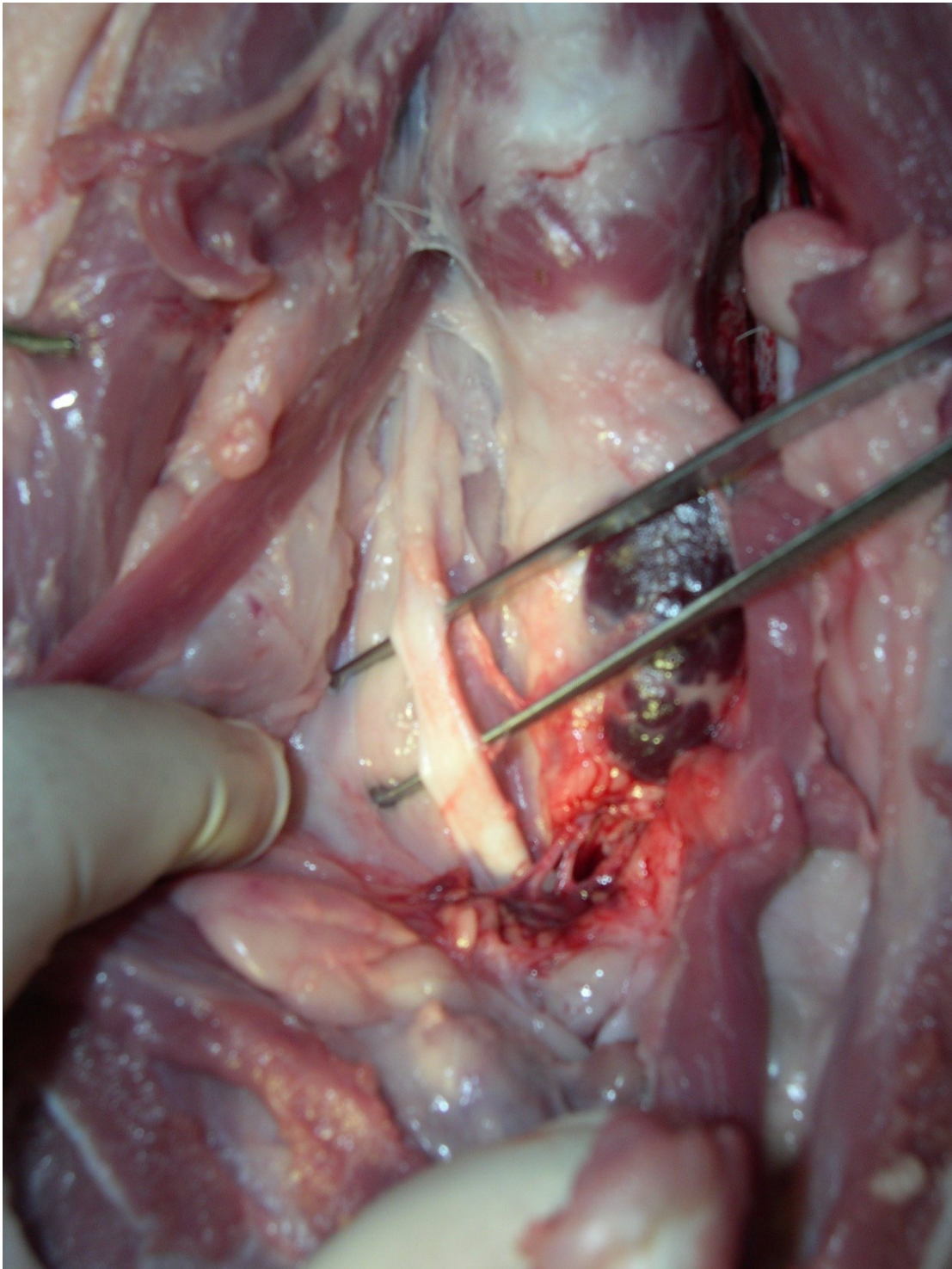


Fig. 7 - Particolare: isolamento dell'arteria carotide destra

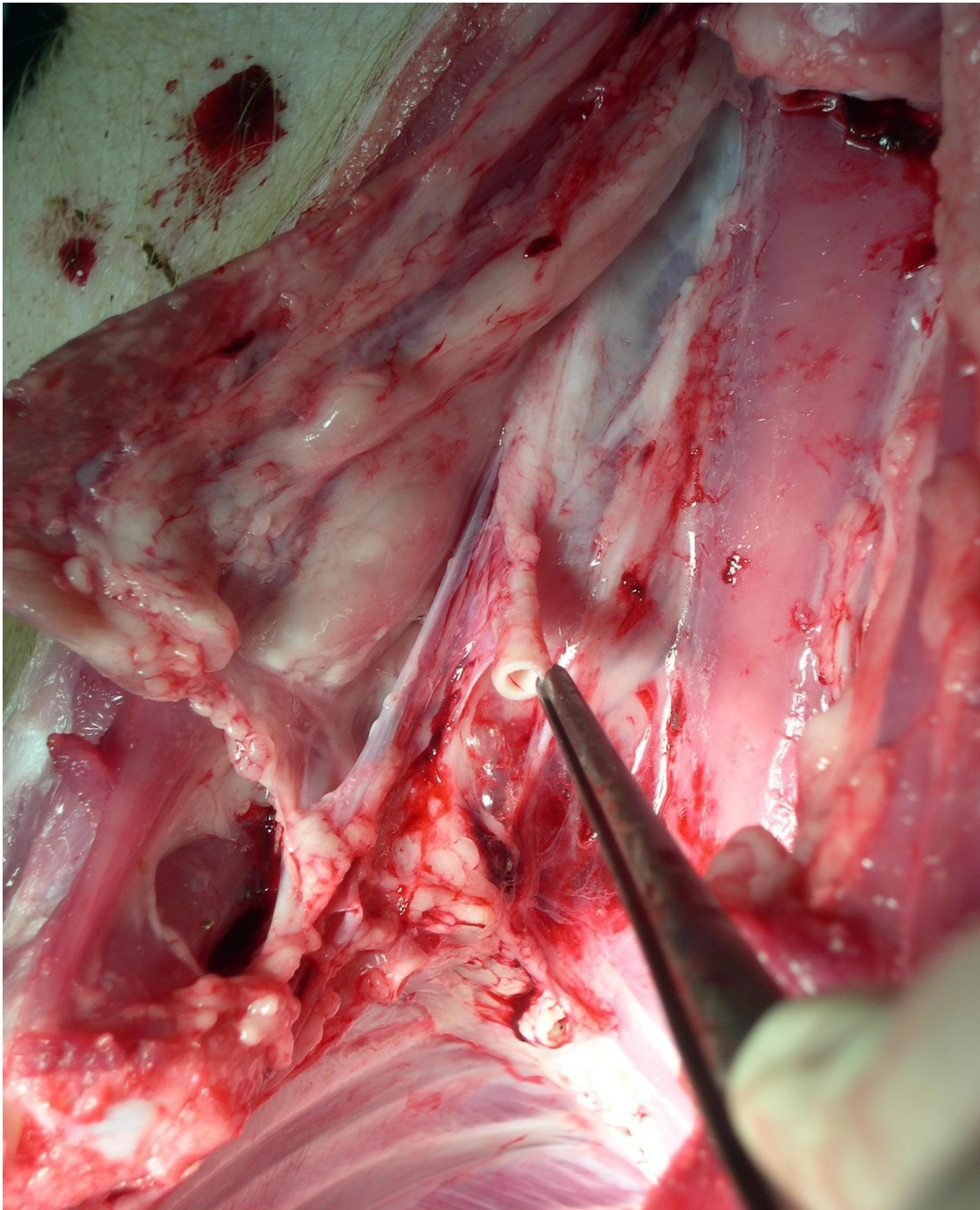


Fig. 8 - Particolare: sezione della carotide di destra

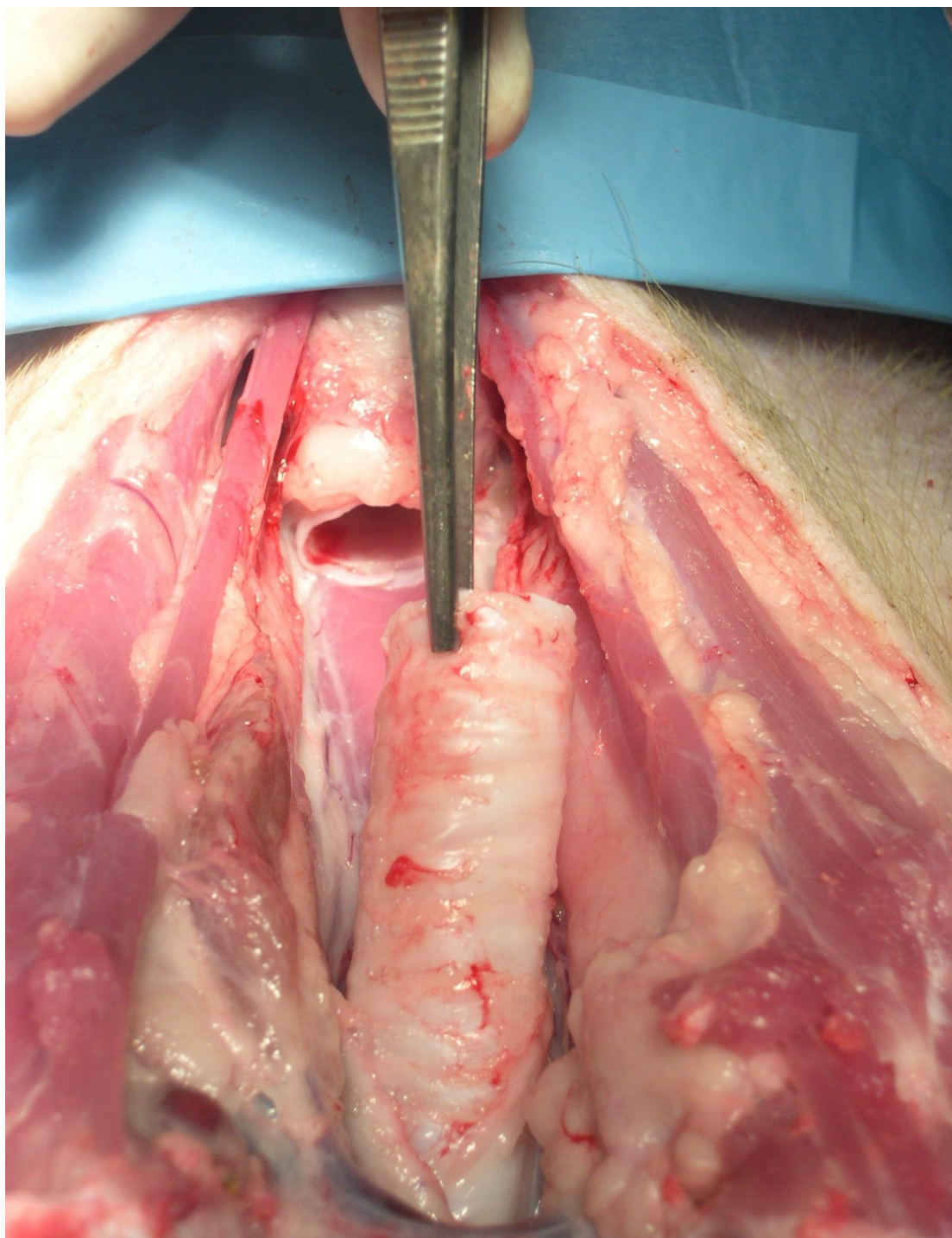


Fig. 9 - Preparato anatomico: trachea

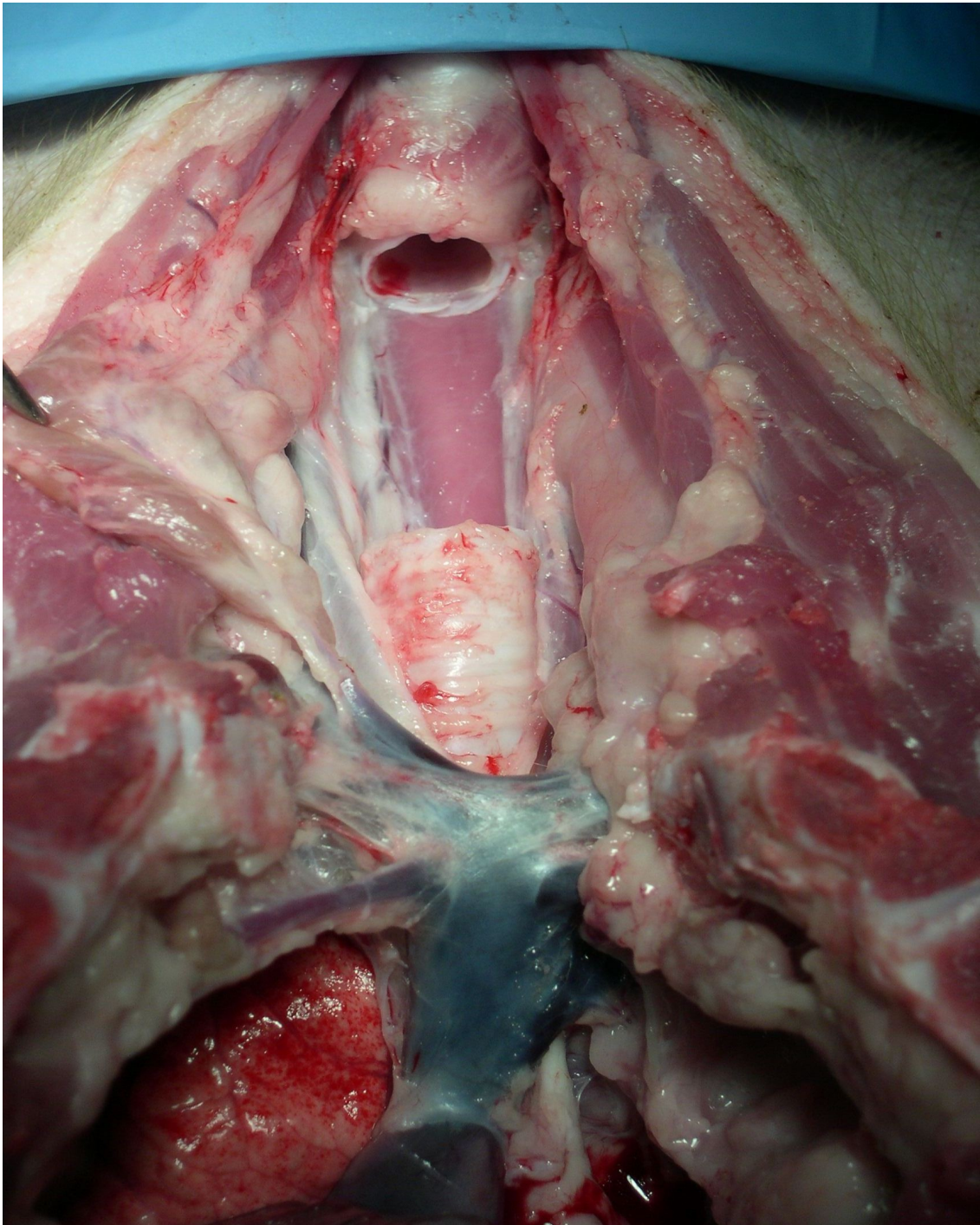


Fig .10 - Preparato anatomico con esposizione cervico-mediastinica: sono distinguibili il tronco venoso anonimo ds e sn confluenti nella vena cava, le carotidi ds e sn, la trachea sezionata e l'esofago.

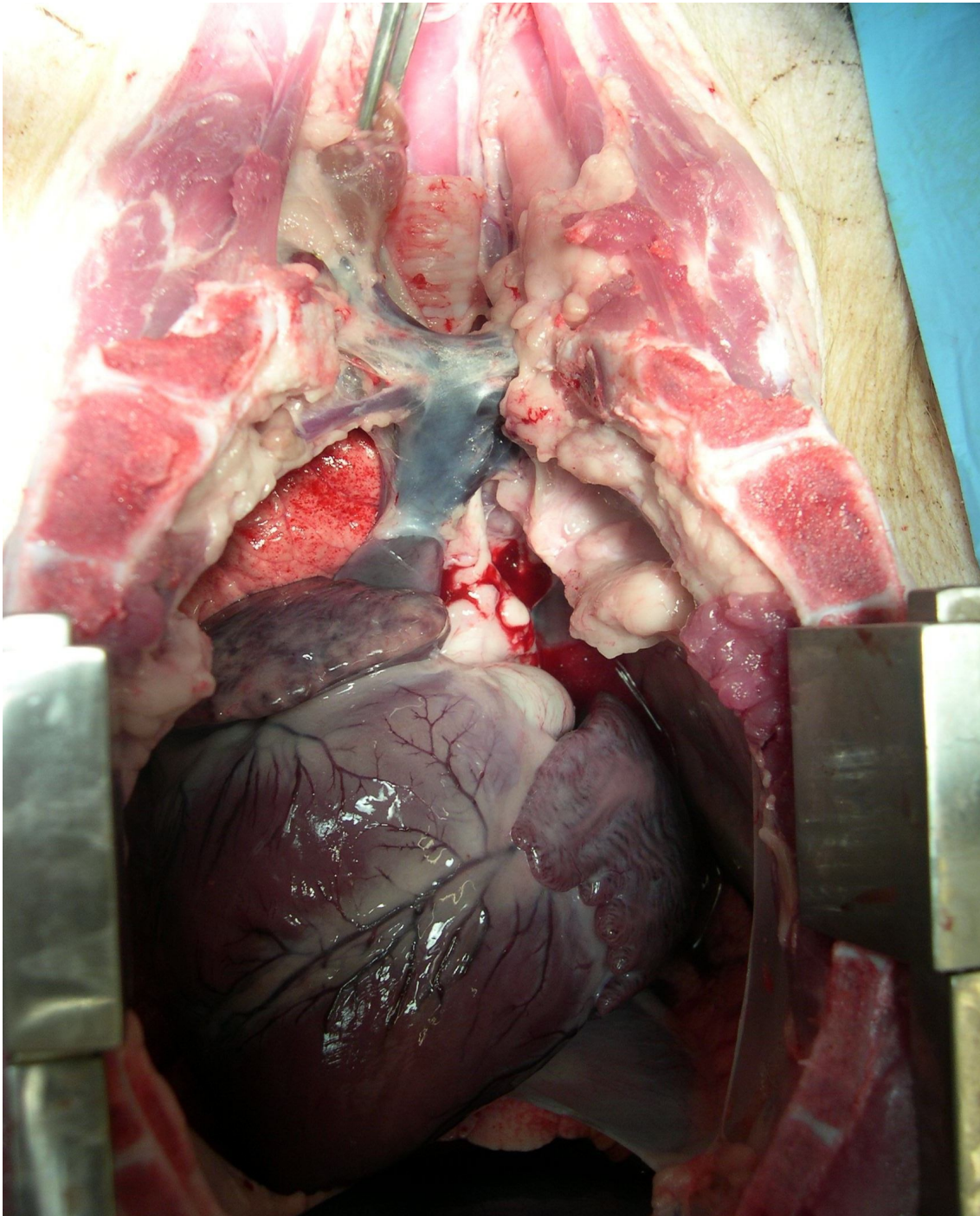


Fig. 11 - Esposizione mediasitinnica per via sternotomica con visione del cuore, della vena cava superiore all'ingresso nell'atrio ds.

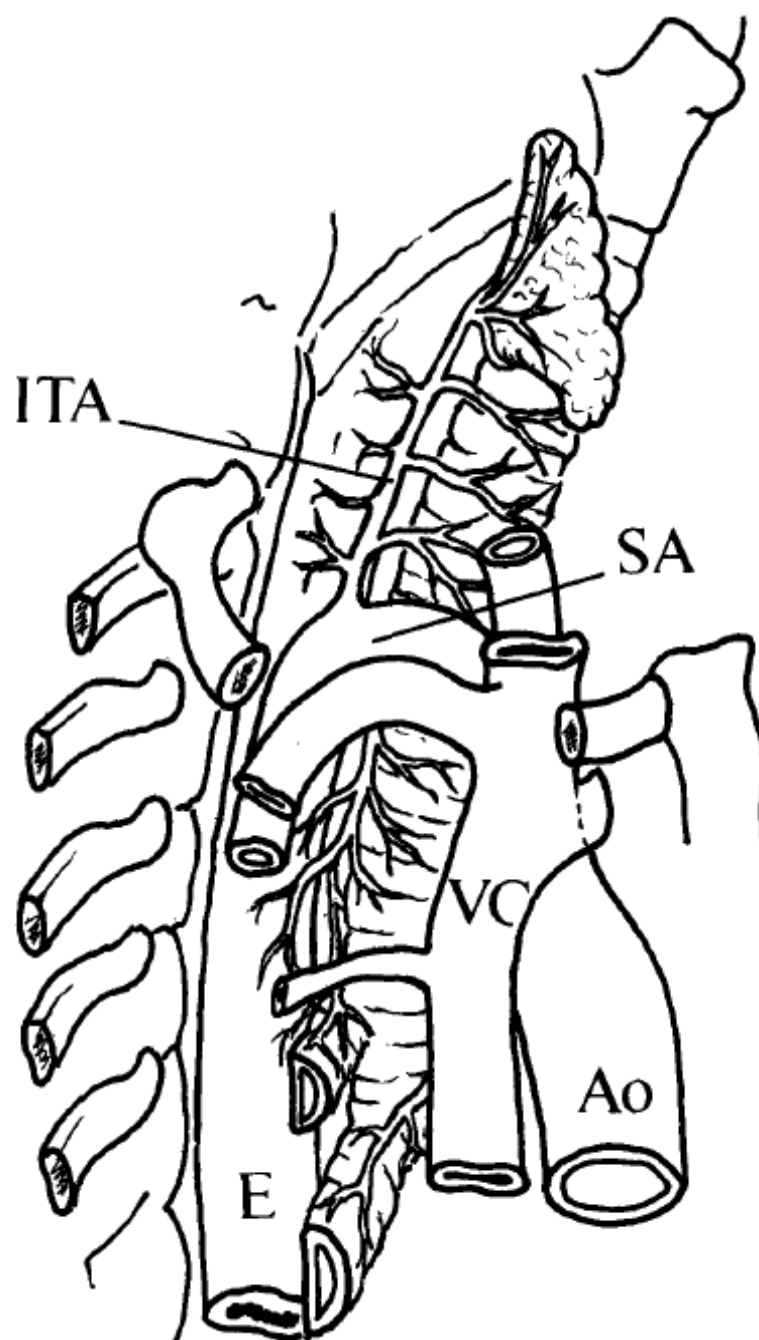


Fig. 12 - Vascolarizzazione tracheale destra nel maiale: ITA=arteria tiroidea inferiore; SA=arteria succalvia, VC=vena cava "anteriore", AO=aorta ascendente, E=esofago.

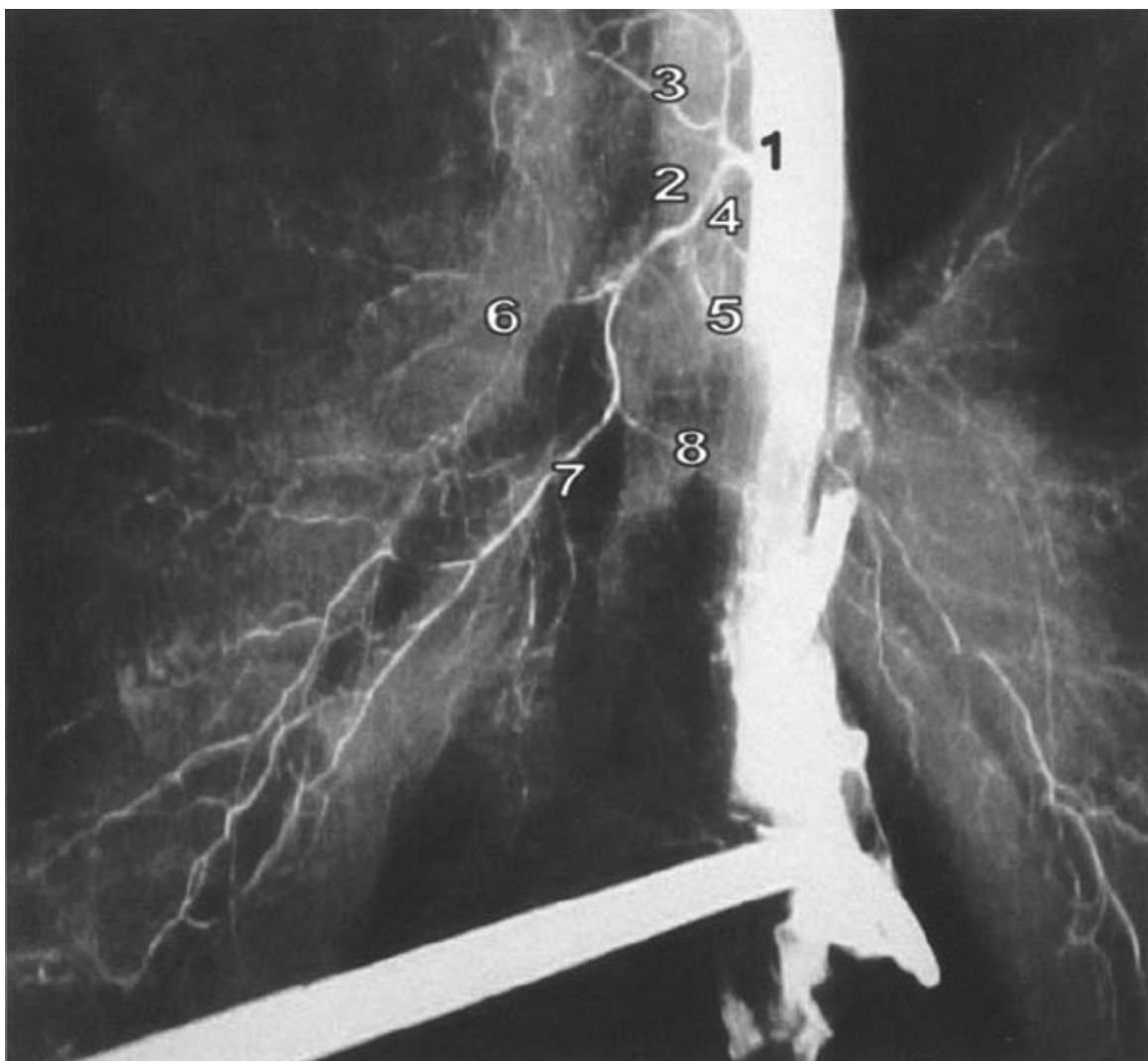


Fig. 13 - Studio agiografico: l'aorta discendente è clampata a livello dell'istmo aortico; il m.d.c. viene iniettato per via retrograda nell'aorta discendente. Dopo aver lasciato l'aorta, l'arteria bronchiale (o broncoesofagea -1) si divide nel ramo carenale (2) e nella seconda branca diretta alla porzione inferiore di trachea ed esofago (3). I piccoli vasi tributari lasciano l'arteria carenale per dirigersi verso il lobo sup.re sn (4) e formano rami laterali (5) per il bronco principale. Posizionata direttamente sopra la carena, l'arteria carenale (6) si divide ulteriormente nei rami laterale (7) e mediale (8) diretti ai bronchi principali ds e sn.

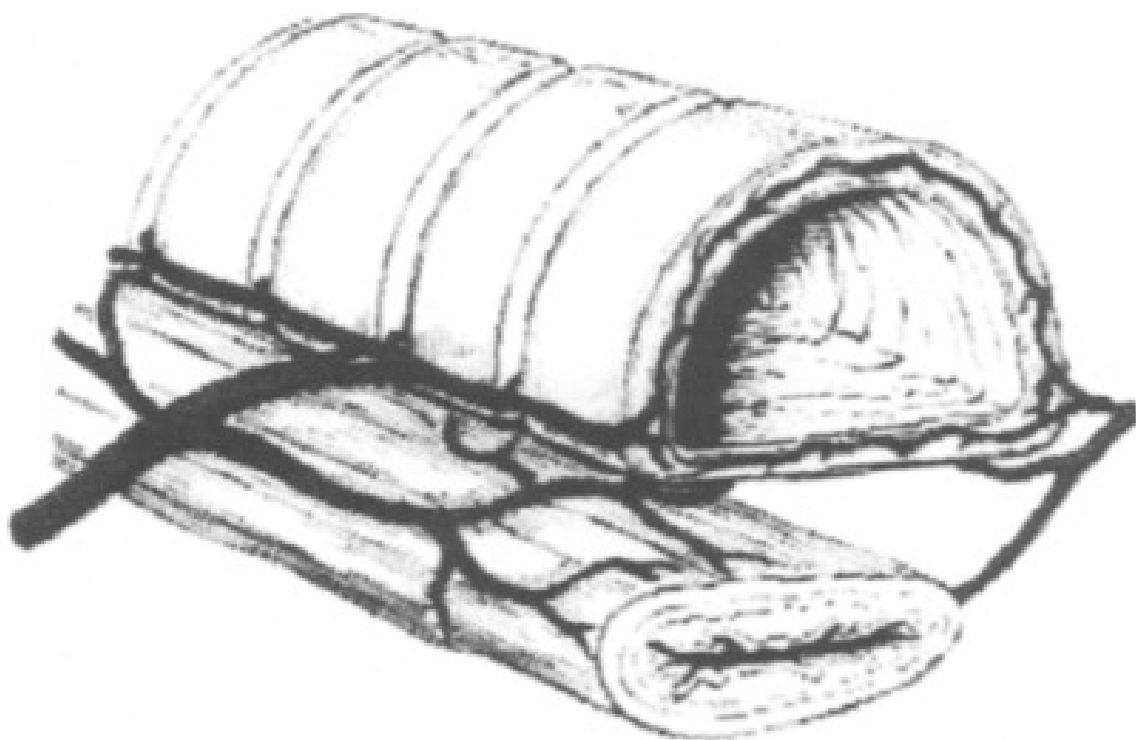


Fig. 14 - Vascolarizzazione della parete posteriore della trachea fornita da piccoli rami arteriosi esofagei

3. MATERIALI E METODI

Prelievo a cuore battente

Previa premedicazione con somministrazione di Ketamina cloridrato i.m. (60mg/Kg) ed anestesia con pentobarbitale di sodio e.v. (12,5 mg/Kg), l'animale donatore viene anestetizzato dopo intubazione endotracheale; l'anestesia viene mantenuta con soluzione inalatoria di alitano allo 0,5-1% mantenendo una ventilazione polmonare con miscela aria-ossigeno ad uguali pressioni parziali ad un volume di Tidale di 250ml con una frequenza di 20 atti resp/minuto.

L'accesso venoso periferico si ottiene posizionando un catetere di 20 gauge sull'orecchio. Vengono monitorate le funzioni di ventilazione ed ossigenazione mediante il rilievo emogasanalitico e di pulsossimetria; viene inoltre monitorata la funzione cardiaca.

Per accedere alla porzione cervicale della trachea si pratica un accesso cervicotomico longitudinale mediano sino alla forchetta del giugulo; si esegue quindi la timectomia (organo il timo particolarmente sviluppato nel maiale) giungendo così al piano della tiroide.

Dopo dissezione dell'asse carotideo-giugulare, si procede alla preparazione del blocco esofago-trachea-tiroide, previa dissezione dell'asse giugulo-succlavio e del tronco venoso anonimo.

Si procede quindi alla legatura di tutto l'asse arterioso e venoso braccio-succlavio mantenendo in monoblocco tiroide, trachea ed esofago, avendo cura di disseccare tra quest'ultimo ed il rachide. Il circolo arterioso e venoso cerebrale non è ancora interrotto: ciò consente una buona stabilità cardiocircolatoria dell'animale.

Si procede quindi all'esecuzione di una sternotomia mediana, legando l'asse giugulo-carotideo e l'azygos destra e sinistra, asportando il blocco trachea-esofago-cuore-polmone-tiroide da un piano posteriore che passa anteriormente al rachide dorsale e cervicale che ritiene come limiti caudali esofago, aorta e cava sovradiafframtica e craniali esofago e trachea a livello del primo anello tracheale ed asse giugulo-carotideo sovratiroideo.

Tracheoplegia e preparazione a banco

Il blocco così estratto viene immerso in una bacinella in regime di sterilità in soluzione fisiologica a 4°C; Si prepara quindi la trachea dopo dissezione di aorta ed arteria polmonare, asportazione del cuore con sezione dell'aorta ascendente a circa 2 cm dall'origine e dei due polmoni a livello della biforcazione tracheale.

La preparazione arteriosa inizia con la sezione del tronco brachiocefalico arterioso, proseguendo con la sezione di un tubulo di aorta discendente di circa 3cm comprendente l'emergenza dell'arteria bronchiale deputata alla vascolarizzazione della biforcazione tracheale ed il tratto distale della trachea (il tratto medio-prossimale è vascolarizzato dall'asse esofago-tiroideo che è stato completamente mantenuto); il tubulo aortico così confezionato, una volta adattato al diametro del tronco brachiocefalico, previa apertura longitudinale anteriore, sezione dei due margini laterali di circa 1 cm per lato e risutura dello stesso con Polene 6-0, viene anastomizzato con il tronco brachiocefalico con sutura termino-terminale continua in Polene 6-0.

La preparazione venosa consiste nella dissezione e sezione della VCS ad 1 cm al di sotto del tronco venoso anonimo; a questo punto si procederà alla tracheoplegia previa infusione di 2 lt di soluzione di conservazione (Perfadex) a livello del tubulo aortico costituito.

Al termine della tracheoplegia verrà asportata la mucosa esofagea con sezione longitudinale dell'esofago, stripping mucoso e capitonage della tonaca muscolare con Vicryl 3-0. Si procederà quindi alla conservazione del blocco così preparato in soluzione salina fredda a 4°C prima dell'impianto.

Trapianto di trachea con vascolarizzazione arteriosa e venosa

Premedicazione, anestesia e monitoraggio dei parametri vitali sono gli stessi già descritti per l'espianto del blocco dall'animale ricevente.

Si procede pertanto ad un'incisione cervicotomica longitudinale sino alla fossetta del giugulo con apertura della linea alba e accesso alla loggia tiroidea, dopo timectomia.

Si procede quindi alla dissezione dell'asse dell'asse giugulo-carotideo di sinistra e del tronco venoso a livello della sua confluenza con la VCS.

Si posiziona quindi il blocco esofago-trachea-tiroide a livello trasversale nel collo e si procede alla rivascularizzazione arteriosa dello stesso tramite anastomosi termino-laterale in Polene 6-0 fra il tubulo aortico e la carotide sinistra; la rivascularizzazione venosa viene realizzata tramite sutura termino-laterale in Polene 7-0 fra la VCS del donatore e la confluenza del tronco venoso-anonimo e la VCS de ricevente.

Al termine del tempo vascolare verranno anastomizzati alla cute del collo del maiale il lume tracheale e la biforcazione tracheale

(in senso trasversale), che saranno utili alla valutazione della vitalità.

Prima della chiusura verranno posizionati due drenaggi Redon in aspirazione per evitare compressione del neo-ilo vascolare da parte di coaguli e/o versamenti.

Stabulazione dell'animale, terapia e controlli post-operatori

L'animale viene stabulato con una somministrazione giornaliera di terapia immunosoppressiva e steroidea, antibiotici e anticoagulanti eparinici; viene medicato quotidianamente, valutando la vitalità tracheale con prelievi biotici endoscopici in seconda, settima e quattordicesima giornata a carico della porzione mediale della trachea, della carena e dei bronchi principali ds e sn.

La stabulazione prevista è stata di 14 giorni.

Gli animali riceventi sono stati soppressi mediante overdose indotta di barbiturici in quindicesima giornata con prelievo del graft ed invio dello stesso per lo studio anatomo-patologico.

Protocollo terapeutico:

- Cefotaxime 1gr/die i.m.
- Gentamicin 80mg/die i.m.
- Fraxiparina 2050 UI/die s.c.
- Acido Acetil Salicilico 100mg /die per os
- Metilprednisolone 240mg i.m. alla riperfusione
- Metilprednisolone 40mg in Ia e IIIa giornata
- Azatioprina 2,5 mg/kg/die per os
- Ciclosporina 5-10 mg/kg/die dalla prima giornata post-operatoria (livello di ciclosporinemia tra i 100 ed i 300 ngr/mL)



Fig. 15 - Cervicotomia

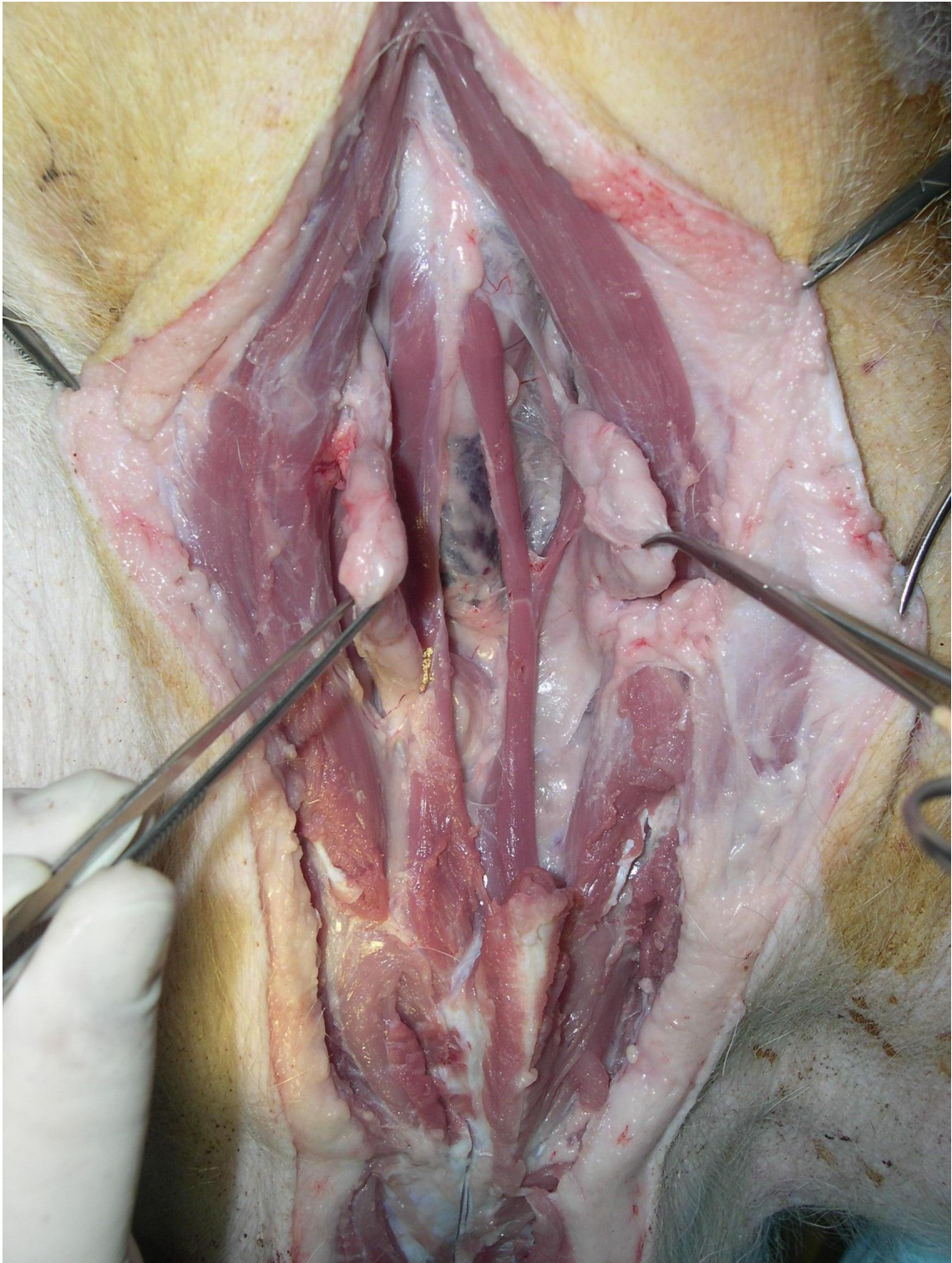


Fig. 16 - Timectomy



Fig. 17 - Esposizione della loggia tiroidea



Fig. 18 - Esposizione del blocco tiroide-trachea-esofago e fascio vascolare

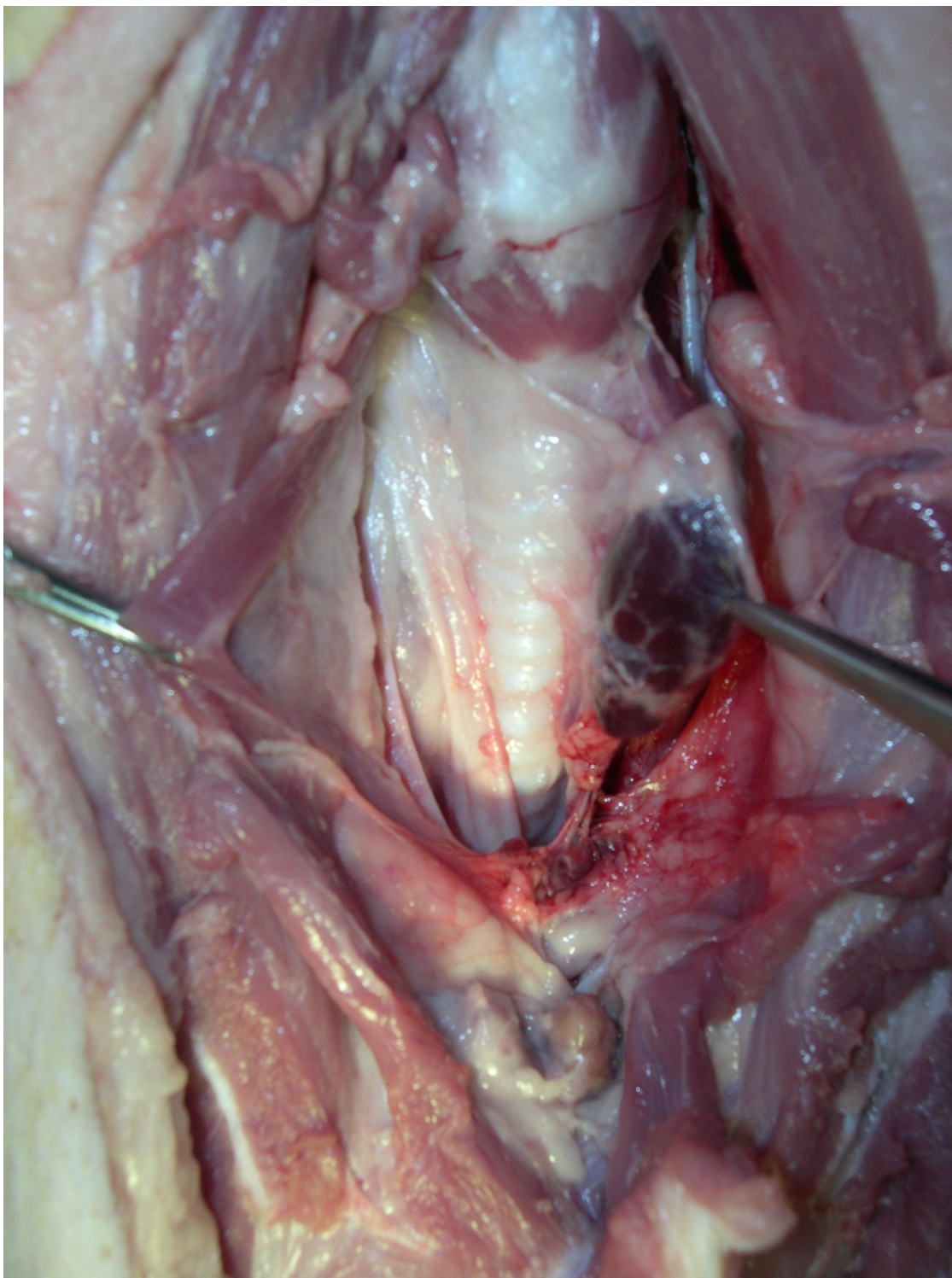


Fig. 19 - Particolare: esposizione del peduncolo vascolare inferiore della tiroide

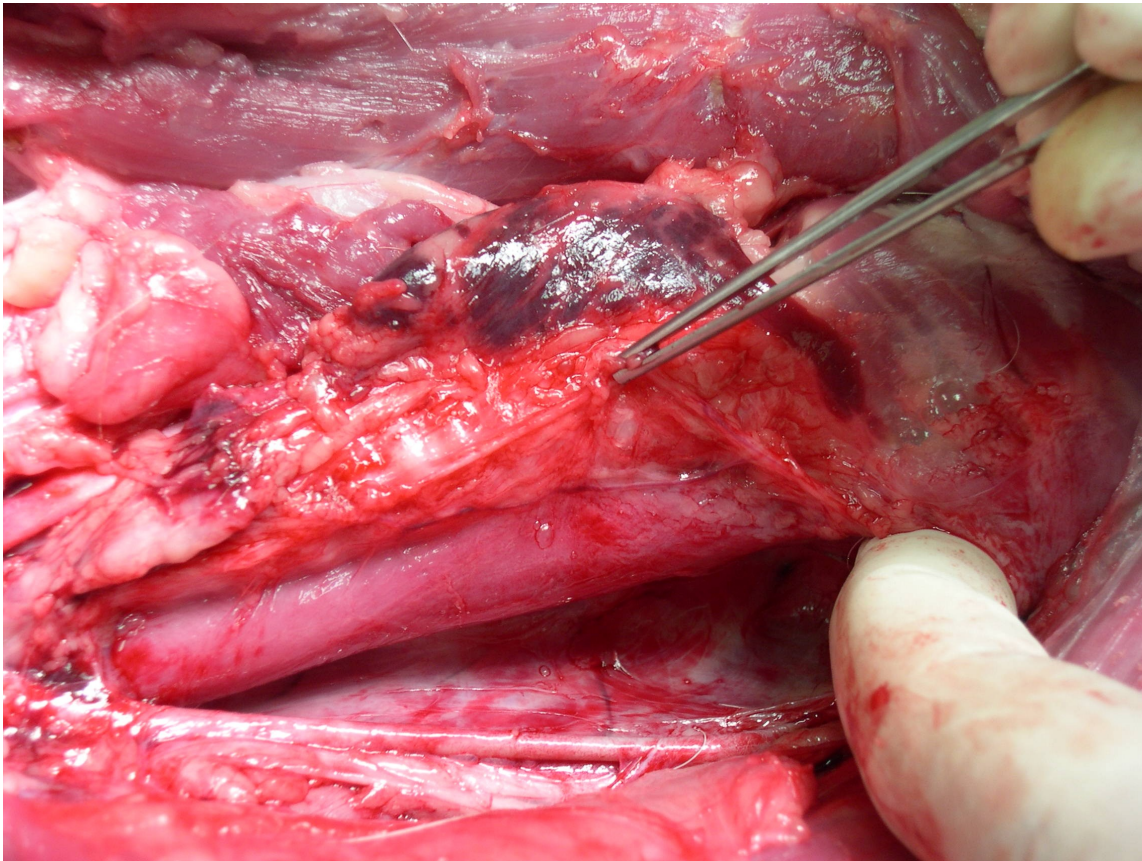


Fig. 20 - Particolare: esposizione del blocco tireo-tracheo-esofageo

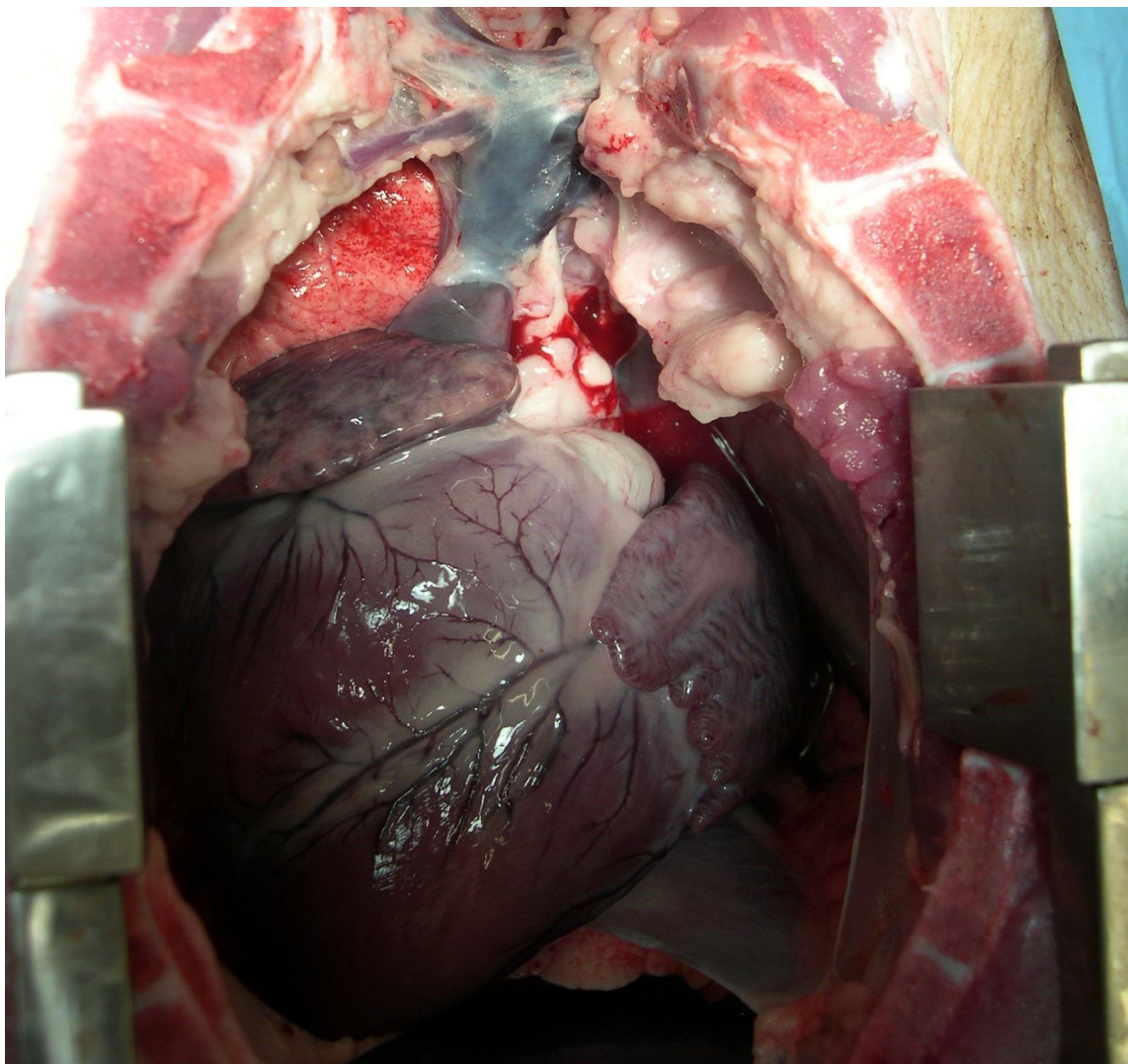


Fig. 21 - Sternotomia con esposizione degli organi toracici

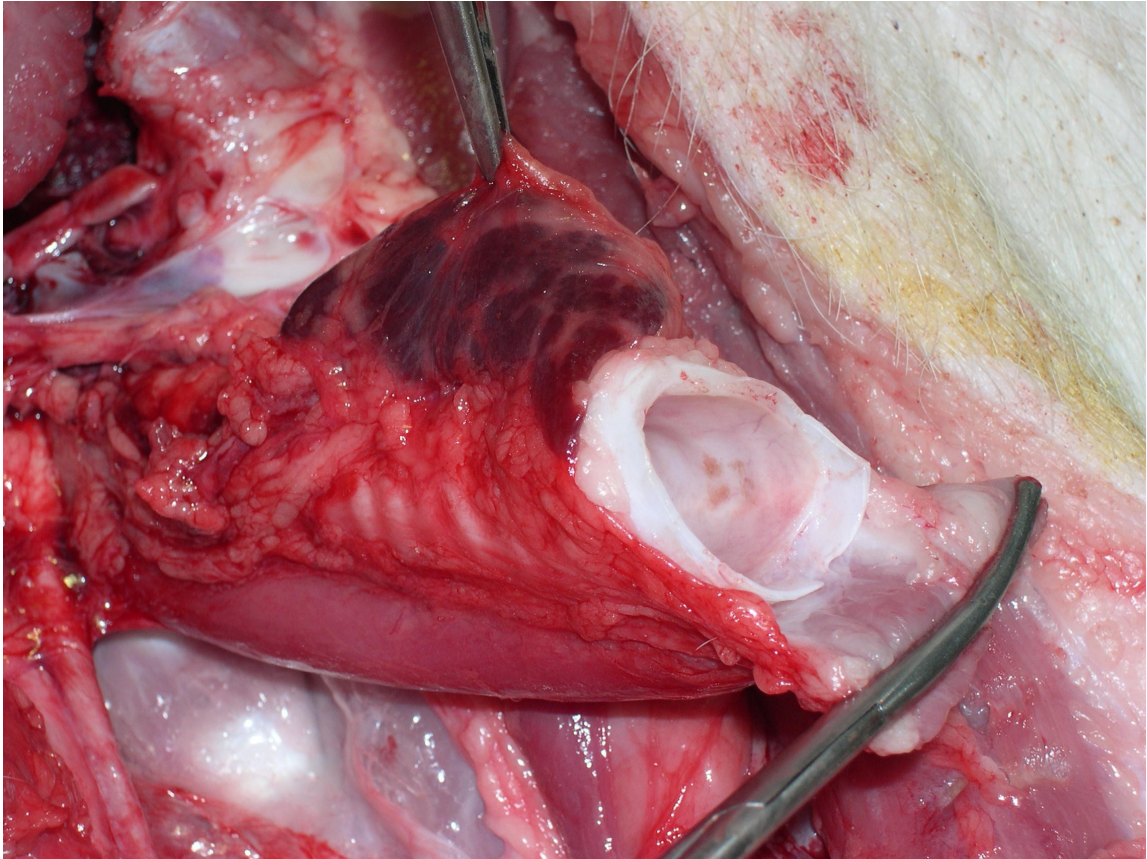


Fig. 22 - Fase iniziale dell'espanto

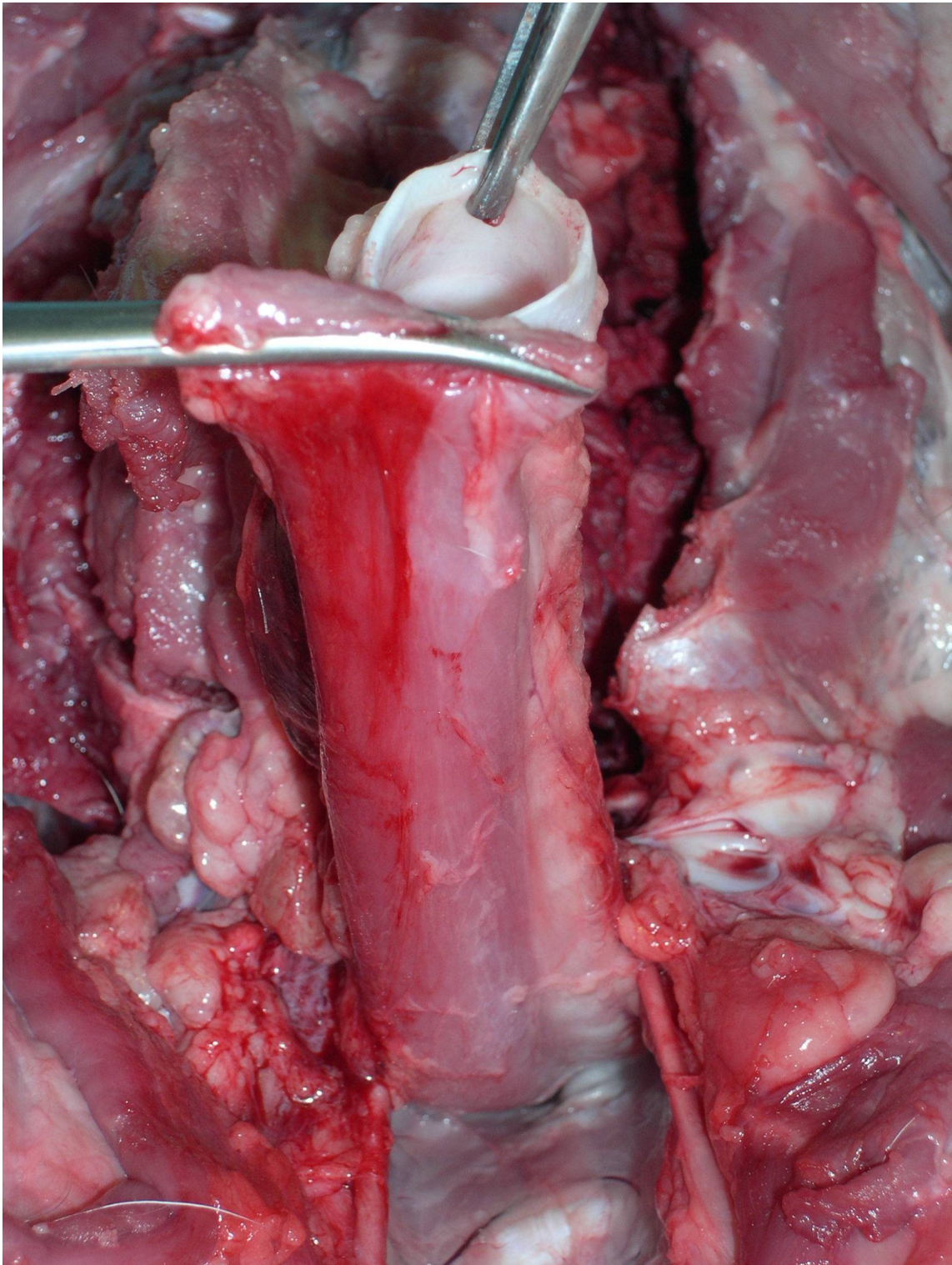


Fig. 23 - Espianto con asportazione del blocco dal piano della colonna vertebrale

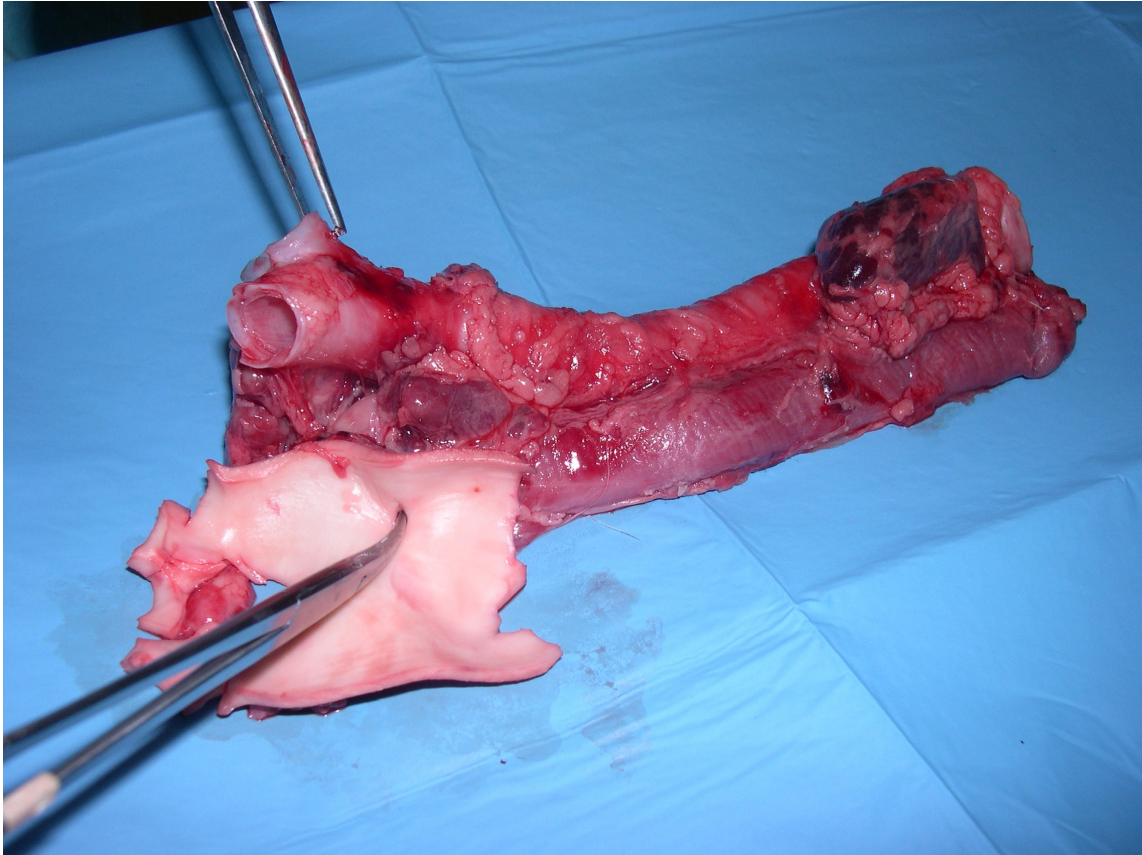
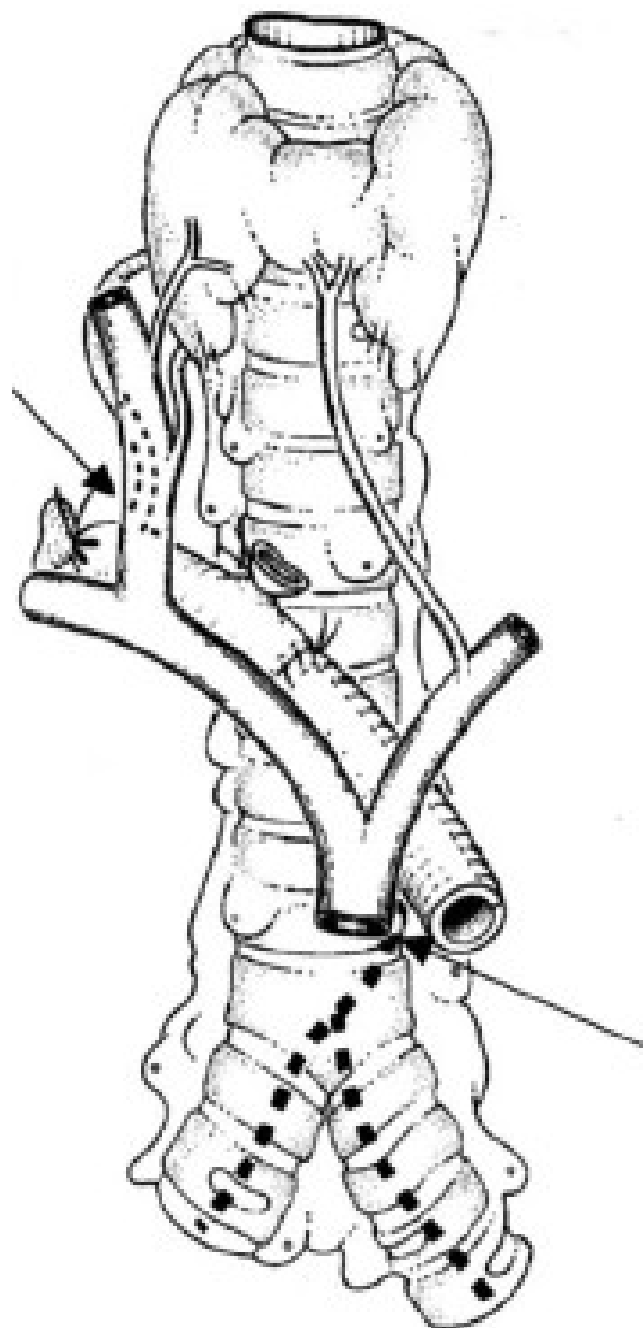


Fig. 24 - Preparazione a banco. Particolare: si evidenzia l'orifizio dell'arteria bronchiale che origina dal segmento aortico che vascolarizza la porzione inferiore della trachea

*ARTERIA
TIROIDEA*



*ARTERIA
BRONCHIALE*

*Fig. 25 - Blocco tireo-tracheo-esofageo con mantenimento della
vascolarizzazione arteriosa e venosa*



Fig. 26 - Veduta finale del blocco preparato a banco con particolare riferimento al tubulo arterioso

4. RISULTATI

Dei 5 maiali trapiantati nessuno è deceduto nell'immediato peri-operatorio. Donatori e riceventi pesavano 20,5 +/- 2,8 e 22,4 +/- 3,2 Kg rispettivamente.

Il tempo medio di espianto è stato di 105,4 +/- 30,5 minuti; il tempo medio di impianto è stato di 180 +/- 20,4 minuti; il tempo di ischemia medio è stato di 178,5 +/- 10 minuti.

La lunghezza del graft tracheobronchiale è stata di 15,5 +/- 0,5 cm.

Si è riscontrata in tutti e 5 i casi in studio una discreta corrispondenza tra le alterazioni macroscopicamente evidenti ed i risultati delle biopsie endoscopiche eseguite nei tempi stabiliti, come mostrato in tabella 1.

Tabella 1 - Valutazione istologica e reperti macroscopici post-operatori

Maiale	2gg	7gg	14gg	Muco	Osservazioni Post-operatorie
A	1	0	0	Presente	Nessuna
B	0	0	0	Presente	Nessuna
C	0	1	2	Assente in 11° gg	Graft normale in 7° gg Necrosi ischemica in 14°
D	0	0	0	Presente	Nessuna
E	0	0	1	Presente	Nessuna

0=parete tracheobronchiale normale, 1=lesione isolata dell'epitelio, 2=necrosi ischemica della cartilagine.

Il graft tracheobronchiale tenuto in soluzione a 4°C risultava senza colorazione; subito dopo la ricircolazione è stato possibile apprezzare una rivascolarizzazione prorompente tale da permettere alla mucosa di tornare al colore originale rosa.

La porzione terminale della trachea e dei due bronchi mostrava sanguinamento sui margini. La Figura 9 mostra chiaramente la qualità di rivascolarizzazione della regione carenale.

In quattro maiali (A,B,D,E) si è evidenziata una normale epitelizzazione muco-secernente del graft correlata ad una morfologia cartilaginea non patologica fino alla 14° giornata, mentre in un caso (maiale C) il graft ha sviluppato un'evidente necrosi severa come risultato di un rigetto acuto, confermato dai dati di laboratorio che mettevano in risalto un incremento progressivo dei livelli sierici di CD3+CD4-CD8- citotossici.

Al contrario, una diminuzione del rapporto CD4+/CD8+ si è osservato in tutti gli animali che mostravano un graft non patologico all'esame istologico (Fig. 27) da mettersi in relazione all'ottenimento di una buona immunosoppressione.

Infine non si sono registrate trombosi vascolari da imputare ad errore tecnico dell'operatore.



Fig. 27 - Immagine microscopica del graft tracheobronchiale in 14^a giornata con epitelio ben differenziato ed infiltrato mononucleare intorno alle ghiandole ed ai vasi della sottomucosa

5. CONCLUSIONI

Questo studio ha come scopo la dimostrazione della vitalità dell'intero condotto tracheale (dalla regione carenale all'imbocco dei bronchi principali) grazie ad un duplice apporto vascolare che allinea sullo stesso asse tracheale le arterie bronchiale e tiroidea inferiore (Fig. 25),

E' stato dimostrato come nell'uomo l'arteria tiroidea inferiore irrori in media dai 6 ai 7 cm della porzione tracheale superiore: con l'utilizzo dell'arteria tiroidea inferiore, abbiamo mostrato la fattibilità del trapianto della porzione cervicale e, soprattutto intratoracica (circa 10 cm) della trachea del maiale., opportunamente vascolarizzata.

Il numero di arterie bronchiale varia da specie a specie e da individuo ad individuo. Nell'uomo, tre o più arterie bronchiali sono descritte nel 90% dei casi.

La rivascularizzazione ad opera dell'arteria bronchiale è stata a lungo tempo considerata il miglior modo per assicurare un buon apporto vascolare alle anastomosi tracheali e bronchiali dopo trapianto polmonare; a conferma di ciò un patch aortico che includa l'arteria bronchiale è stato impiantato in più occasioni da Mills e coll. in protocolli sperimentali su trapianto polmonare nei cani.

La nostra scelta tecnica principale in questo studio è stata quella di realizzare un peduncolo vascolare composto dall'arteria bronchiale accoppiata all'asse della tiroidea inferiore.

Il modello eterotopico è di notevole importanza in quanto permette un'ispezione pressoché giornaliera dello stato del graft, unita alla constatazione della presenza o meno di

secrezioni mucose, allo stesso modo di perfezionare biopsie endoscopiche senza comportare alcuno stress respiratorio.

Il nostro lavoro conferma che la secrezione mucosa e la soddisfacente vascolarizzazione sono intimamente correlate al buon esito del trapianto.

Possiamo concludere asserendo che un apporto vascolare arterioso soddisfacente da parte dell'arteria bronchiale costituisce una *conditio sine qua non* irrinunciabile per garantire vitalità, efficienza e, non ultima, pervietà del sistema tracheo-bronchiale.

In assenza di ciò le conseguenze inevitabili sono rappresentate da un progressivo deterioramento a carico della mucosa tracheale che porta dapprima al riscontro di lesioni isolate dell'epitelio, secondariamente a necrosi ischemica della sottomucosa ed infine a necrosi ischemica della cartilagine con compromissione fatale dello stato di vitalità dell'organo (Maiale C) .

Nonostante i risultati di questo studio siano discretamente promettenti (l'80% degli animali in studio ha portato a termine la sperimentazione con successo) non si devono dimenticare gli attuali limiti di applicazione in campo umano della metodica: considerazione questa supportata dall'assenza di risultati a lungo termine.

Ciò rende l'indicazione al trapianto di trachea umano eccezionale, ovvero riservata a casi in cui le soluzioni terapeutiche standard non siano realizzabili.

Le prospettive attuali sono quelle di ripetere il medesimo protocollo applicato ad un numero maggiore di animali da esperimento, incrementando possibilmente il tempo di ischemia e di stabulazione, comparando diverse soluzioni di perfusione e/o di conservazione in modo tale da ottenere risultati a lungo termine statisticamente significativi.

6. BIBLIOGRAFIA

Yokomise H, Inui K, Wada H, Ueda M, Hitomi S, Itoh H Split transplantation of the trachea: a new operative procedure for extended tracheal resection. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996 Aug; 112(2):314-8.

Murakami S, Sato H, Uno Y, Ishikawa et al . Tracheal reconstruction after lower tracheal resection using the inverted right bronchus-an experimental study. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1993 Dec;41(6):335-9.

Backer CL, Mavroudis C, Gerber ME, Holinger LD. Tracheal surgery in children: an 18-year review of four techniques. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2001;19:777-84.

Van Veenendaal MB, Liem KD, Marres HA. Congenital absence of the trachea. *Eur J Pediatr*. 2000;159:8-13.

Birchall M. Human laryngeal allograft: shift of emphasis in transplantation. *Lancet*. 1998;351:539-40.

Macchiarini P. Tracheal transplantation: beyond the replacement of a simple conduit. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1998;14:621-3.

Moriyama H, Sasajima T, Hirata S, Yamazaki K, Yatsuyanagi E, Kubo Y. Revascularization of canine cryopreserved tracheal allografts. *Ann Thorac Surg*. 2000; 69:1701-6.

Martinod E, Zegdi R, Zakine G, Aupecle B, Fornes P, D'audiffret A, et al. A novel approach to tracheal replacement: the use of an aortic graft. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2001;122:197-8.

Vacanti CA, Paige KT, Kim WS, Sakata J, Upton J, Vacanti JP. Experimental tracheal replacement using tissue-engineered cartilage. *J Pediatr Surg*. 1994;29:201-5.

Nakanishi R, Shirakusa T, Takachi T. Omentopexy for tracheal autografts. *Ann Thorac Surg*. 1994;57:841-5.

Baile EM, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Selman-Lama M, Villalba J, Arreola JL, et al. Tracheobronchial blood flow after a modified canine lung autotransplant: effect of omental wrapping. *Transplant Proc.* 1992;24:2024-9.

Mukaida T, Shimizu N, Aoe M, Andou A, Date H, Moriyama S. Origin of regenerated epithelium in cryopreserved tracheal allotransplantation. *Ann Thorac Surg.* 1998;66:205-8.

Neville WE, Bolanowski PJP, Soltanzadeh H. Homograft replacement of the trachea using immunosuppression. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1976;72:596-601.

Macchiarini P, Lenot B, de Montpreville V, Dulmet E, Mazmanian GM, Fattal M, et al. Heterotopic pig model for direct revascularization and venous drainage of tracheal allografts. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;108:1066-75.

Salassa JR, Pearson BW, Payne WS. Gross and microscopical blood supply of the trachea. *Ann Thorac Surg.* 1977;24:100-7.

Patterson GA, Todd TR, Cooper JD, Pearson FG, Winton TL, Maurer J. Airway complications after double lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1990;99:14-20.

Salmeron J, Gannon PJ, Blackwell KE, Shaari CM, Urken ML. Tracheal transplantation: superior and inferior thyroid artery perfusion territory. *Laryngoscope.* 1998;108:849-53.

Deffebach ME, Charan NB, Lakshminarayan S, Butler J. The bronchial circulation. Small, but a vital attribute of the lung. *Am Rev Respir Dis.* 1987;135:463-81.

Schreinemakers HH, Weder W, Miyoshi S, Harper BD, Shimokawa S, Egan TM, et al. Direct revascularization of bronchial arteries for lung transplantation: an anatomical study. *Ann Thorac Surg.* 1990;49:44-54.

Metras H. Note preliminaire sur la greffe totale du poumon chez le chien. *Proc Acad Sci.* 1950;231:1176-7.

Mills NL, Boyd AD, Gheranpong C. The significance of bronchial circulation in lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1970;60:866-74.

Laks H, Louie HW, Haas GS, Drinkwater DC, Lewis W, Permut LC, et al. New technique of vascularization of the trachea and bronchus for lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1991;10:280-7.

Couraud L, Baudet E, Martigne C, Roques X, Velly JF, Laborde N, et al. Bronchial revascularization in double-lung transplantation: a series of 8 patients. *Ann Thorac Surg*. 1992;53:88-94.

Daly RC, Tadjkarimi S, Khaghani A, Banner NR, Yacoub MH. Successful double-lung transplantation with direct bronchial artery revascularization. *Ann Thorac Surg*. 1993;56:885-92.

Norgaard MA, Efsen F, Andersen CB, Svendsen UG, Pettersson G. Medium-term patency and anatomic changes after direct bronchial artery revascularization in lung and heart-lung transplantation with the internal thoracic artery conduit. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1997;114: 326-31.

Norgaard MA, Olsen PS, Svendsen UG, Pettersson G. Revascularization of the bronchial arteries in lung transplantation: an overview. *Ann Thorac Surg*. 1996;62:1215-21.

Marelli D, Paul A, Nguyen DM, Shennib H, King M, Wang NS, et al. The reversibility of impaired mucociliary function after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1991;102:908-12.

Nakanishi R, Hashimoto M, Muranaka H, Yasumoto K. Effect of cryopreservation period on rat tracheal allografts. *J Heart Lung Transplant*. 2001;20:1010-5.

Liu Y, Nakamura T, Shimizu Y, Ueda H, Yoshitani M, Toba T, et al. Tracheal allotransplantation in beagle dogs without immunosuppressants. *Ann Thorac Surg*. 2001;72:1190-4.

Bujia J, Wilmes E, Hammer C, Kastenbauer E. Tracheal transplantation: demonstration of HLA class II subregion gene products on human trachea. *Acta Otolaryngol*. 1990;110:149-54.

Tobin CE. The bronchial arteries and their connections with other vessels in the human lung. *Surg Gynecol Obstet*. 1952;95:741-50.

Fadel E, Mazmanian GM, Chapelier A, Baudet B, Detruit H, de Montpreville V, et al. Lung reperfusion injury after chronic or acute unilateral pulmonary artery occlusion. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157:1294-300.

Donahue DM, Grillo HC, Wain J, Wright CD, Mathisen DJ. Reoperative tracheal resection and reconstruction for unsuccessful repair of postintubation stenosis. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1997;114:934-9.